

# 团体标准《乳及乳制品中维生素 K<sub>1</sub> 和 K<sub>2</sub> 含量的测定 高效液相色谱法》(征求意见稿)编制说明

## 一、标准制定的背景

当前食品领域中,维生素 K<sub>1</sub> 与 K<sub>2</sub> 的检测依赖两项独立国家标准方法,分别为《GB 5009.158-2016 食品中维生素 K<sub>1</sub> 的测定》和《GB 5009.290-2023 食品安全国家标准 食品中维生素 K<sub>2</sub> 的测定》。其中,维生素 K<sub>2</sub> 三种分型的检出限分别为 70 μg/kg、70 μg/kg、160 μg/kg,定量限分别为 200 μg/kg、200 μg/kg、510 μg/kg。随着食品工业的快速发展,市场上涌现出各类新型食品产品,现有国标独立检测方法检出限已难以适配产品检测需求,亟需建立满足产品限值的检验方法。

标准必要性探讨:弥补现有国标方法检出限不能满足新产品检测需求。现有国标将维生素 K<sub>1</sub> 与 K<sub>2</sub> 检测分为两个独立方法,无法覆盖当前市场上新型食品产品的检测需求。新型食品在配方、加工工艺等方面与传统食品存在差异,现有方法检出限高、检测范围不全面,不能满足企业质量控制的实际要求,建立同步检测方法可有效弥补这一短板。提升检测效率与成本控制水平。独立检测方法需分别开展样品前处理、检测分析等环节,不仅增加了检测人员的工作量,还导致检测时间延长、试剂耗材等成本增加。建立同步检测方法可实现一次样品处理、同时完成两种维生素的检测,大幅缩短检测周期,降低检测成本,提升检测工作的整体效率。因此建立满足新产品限量要求的、高效的同步检测方法具有迫切的现实需求。

为快速响应、解决企业面临的问题,并同时满足生产企业产品的

研发、上市生产和质量控制的要求特推出乳及乳制品中维生素 K<sub>1</sub> 和 K<sub>2</sub> 含量的测定团体标准方法的建立，至关重要。

## 二、工作概况

### （一）任务来源

本项目在内蒙古蒙牛乳业（集团）股份有限公司、上海市质量监督检验技术研究院有限公司、青岛海关技术中心、内蒙古特康瑞营养食品有限责任公司、微谱北方检测认证（山东）有限公司、上海微谱检测认证有限公司、内蒙古欧世蒙牛乳制品有限责任公司、现代牧业（集团）有限公司等单位在填报了《乳及乳制品中维生素 K<sub>1</sub> 和 K<sub>2</sub> 含量的测定》标准项目建议书的之后，接收建立制定该检测方法的计划、内容、实施步骤等事宜，在得到上海市检验检测认证协会的确认和批准后进入实施阶段。

### （二）主要工作过程

2026 年 1 月 29 日，根据《中华人民共和国标准化法》、国标委《团体标准管理规定》和《上海市检验检测认证协会团体标准管理办法（试行）》的相关规定，XXX 联合上海市检验检测认证协会组织专家对《乳及乳制品中维生素 K<sub>1</sub> 和 K<sub>2</sub> 含量的测定》团体标准进行立项评审。经审议，该团体标准符合立项条件，批准立项。

202 年 1 月 29 日，.....

2026 年 XX 月 XX 日-XX 月 XX 日，将征求意见稿公开征求意见。

.....

## 三、编制原则和主要内容编制原则

## （一）编制原则

### 1、规范性原则

以现行法律法规为依据符合《食品安全法》、《食品安全国家标准管理办法》，同时按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》、GB/T 20004.1《团体标准化 第1部分：良好行为指南》有关规定编写。

### 2、创新性原则

以有利于解决食品安全、行业发展紧迫问题，满足当前食品健康营养发展、安全质量监督需要为原则，检测方法标准体现通用性和适用性，对当前现有技术方法有创新发展之处，易于操作、实现。

## （二）主要内容

### 1、范围

本标准规定了乳及乳制品中维生素K<sub>1</sub>和K<sub>2</sub>含量的测定方法。

本标准适用于乳及乳制品中维生素K<sub>1</sub>、维生素K<sub>2</sub>(四烯甲萘醌MK-4、七烯甲萘醌MK-7、九烯甲萘醌MK-9)四种组分含量的测定。

其中奶粉和奶酪基质数据正在验证中。

### 2、规范性引用文件

下列文件中是应用本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包所有的修改单）适用于本文件。

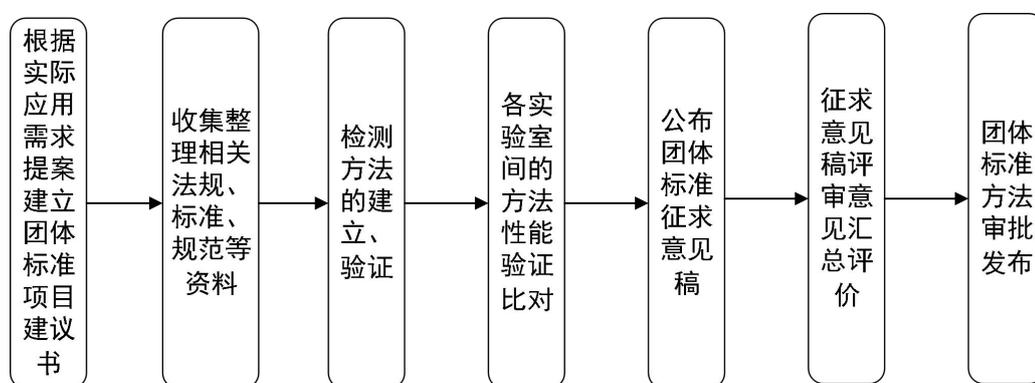
GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

### 3、术语和定义

维生素 K，包含 K<sub>1</sub>、K<sub>2</sub>、K<sub>3</sub>、K<sub>4</sub> 等几种形式，其中 K<sub>1</sub>、K<sub>2</sub> 是天然存在的，属于脂溶性维生素，在动物体内具有生物活性的是维生素 K<sub>2</sub>，从化学结构上看，维生素 K<sub>1</sub> 和维生素 K<sub>2</sub> 是甲萘醌类化合物，维生素 K<sub>2</sub> 根据侧链上异戊二烯单元的数量可见不同的分型，例如四烯甲萘醌 (MK-4)、七烯甲萘醌 (MK-7)、九烯甲萘醌 (MK-9) 等。

#### 4、评价模型

按照以下流程模型进行评价



#### 5、评价要求

标准方法符合实际生产、质量控制需求，方法性能满足方法学要求。

#### 6、评价方法

在已建立的检测方法基础上，开展标准方法评价，进行方法性能验证、实验室间重现性比对。

##### 6.1 流动相条件的确定及特异性

流动相条件参考了《GB 5009.158-2016 食品安全国家标准 食品中维生素 K<sub>1</sub> 的测定》和《GB 5009.290-2023 食品安全国家标准 食品中维生素 K<sub>2</sub> 的测定》中流动相的配制方法，因乳制品处理后，样液中

杂质的出峰时间为 3-7min，采用甲醇和四氢呋喃 9+1 的比例，第一个组分四烯甲萘醌的出峰时间为 7min 左右，小于这个比例，则四烯甲萘醌的出峰时间提前，造成分离不理想，甲醇比例加大则会造成分离时间过长，因此采用国标中规定的流动相，分离谱图见下图 1:

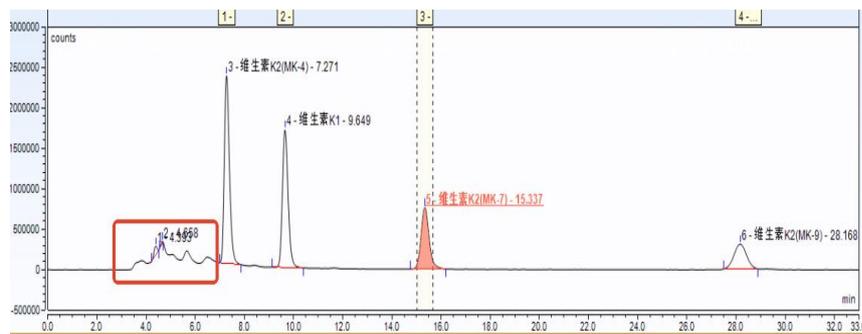


图 1 样品中维生素 K<sub>1</sub>和维生素 K<sub>2</sub> (MK-4、MK-7、MK-9) 色谱图

从图中可看出，在 33min 内维生素 K<sub>1</sub>和维生素 K<sub>2</sub>的三个组分均可达到完全分离，特异性较好。

## 6.2 试样前处理条件的确定

因四种目标组分的结构及侧链的结构和长度导致的极性差异，直接决定了其溶解性、色谱行为，侧链越长，分子整体的疏水性越强，极性越低，因此必须根据其极性差异来选择合适的溶解和检测方案，本方法从酶解时间、正己烷提取次数、浓缩后的复溶溶剂等方面对维生素 K<sub>1</sub>和维生素 K<sub>2</sub>的提取效率进行分析，经过试验确定试样前处理方式为：酶解时间为 3h 以上，在测定七烯甲萘醌和九烯甲萘醌时，需要提取 3 次，浓缩后的复溶溶剂选择甲醇和异丙醇（1: 1）的混合液溶解并超声 5min。

## 6.3 曲线方程线性及测量范围

将浓度为 0.01, 0.02, 0.05、0.10、0.20、0.40、0.80  $\mu\text{g/mL}$  的维生素 K<sub>1</sub>、四烯甲萘醌、七烯甲萘醌、九烯甲萘醌标准工作溶液进

行 3 次测定，得到目标化合物峰面积，根据标准曲线目标化合物的各浓度，具体数据及所得线性回归方程和相关系数见下表 1 和图 2-5。

浓度(μg/mL) 目标物峰面积	0.01	0.02	0.05	0.10	0.20	0.40	0.80
MK-4 1	72931.915	171131.9779	265310.9408	765447.4033	1922948.753	3853409.741	7725712.702
MK-4 2	71654.5375	172212.815	265047.3842	772535.7133	1934088.37	3854433.688	7852211.293
MK-4 3	67455.7679	165343.6454	393792.0992	613958.2625	1696370.652	3699659.322	7814519.534
VK <sub>1</sub> 1	70501.13	159214.2467	243855.9967	700930.3592	1740880.471	3477987.059	6983665.397
VK <sub>1</sub> 2	69508.59	158123.595	248147.8283	708066.2192	1749624.712	3525795.633	7161202.514
VK <sub>1</sub> 3	58880.3383	145356.7754	349207.3488	529294.19	1490249.789	3232012.357	6762773.575
MK-7 1	44760.5588	111278.5267	171179.8	493933.2025	1249586.313	2505321.817	5080666.118
MK-7 2	45809.98	112250.5708	172174.4983	506513.4125	1265768.446	2514943.095	5223130.516
MK-7 3	46285.4608	113284.4458	263092.6413	410640.5663	1149288.988	2535150.834	5253217.119
MK-9 1	32881.4775	80914.0192	123799.9908	357491.2379	911557.8238	1842307.79	3698469.463
MK-9 2	32120.3696	82384.8354	127471.4833	366445.655	927030.2879	1863331.597	3764928.003
MK-9 3	30829.205	77201.1467	189641.5221	297036.1792	822118.29	1788787.328	3792083.54

表 1 维生素 K 标准工作液浓度及对应的峰面积

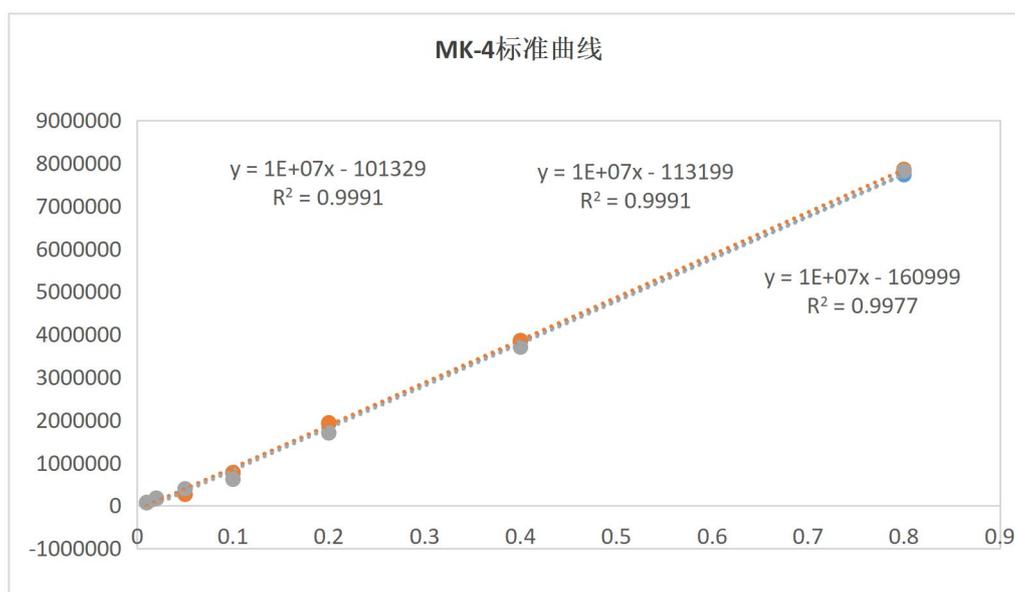


图 2 四烯甲萘醌的线性回归图和相关系数

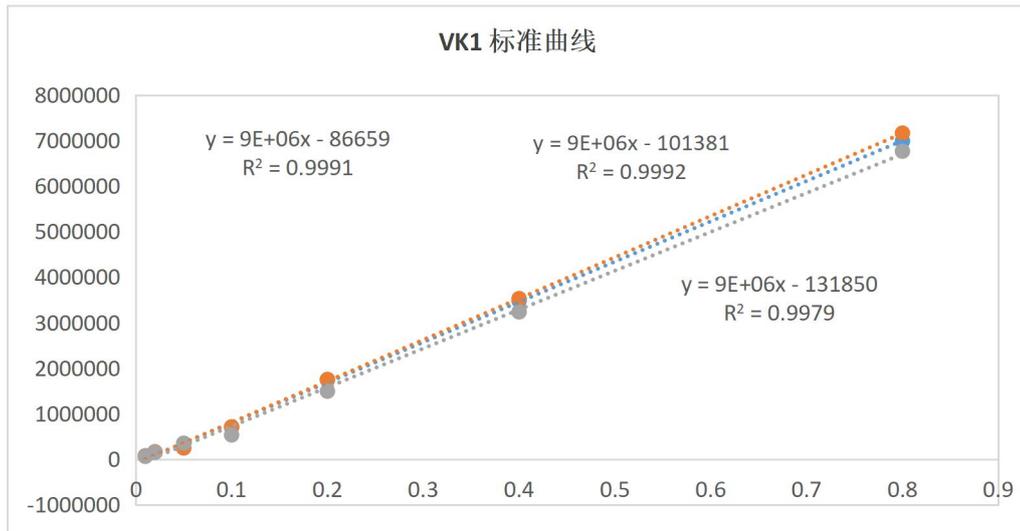


图3 维生素 K<sub>1</sub> 的线性回归图和相关系数

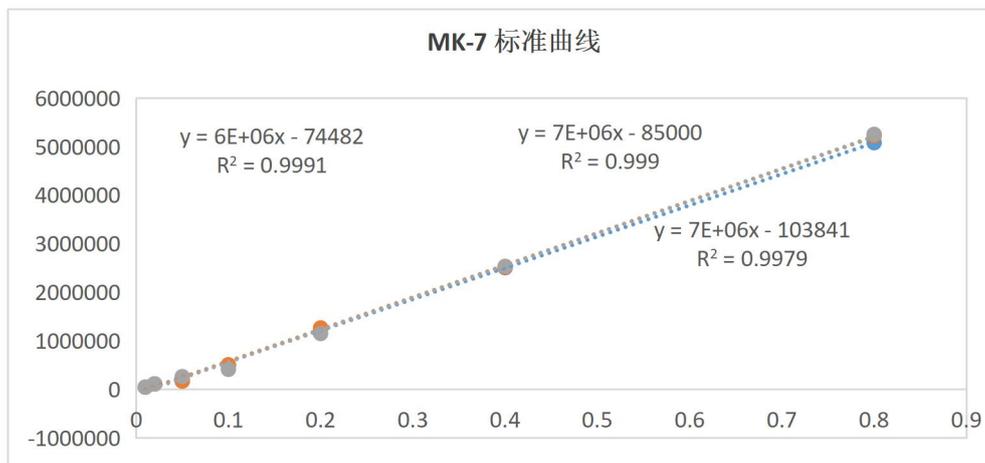


图4 七烯甲萘醌的线性回归图和相关系数

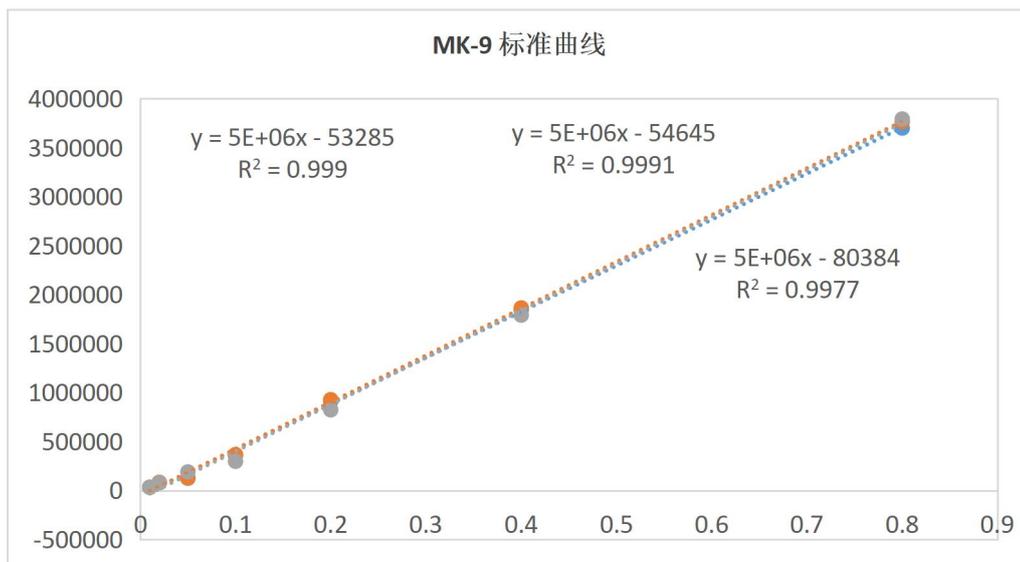


图5 九烯甲萘醌的线性回归图和相关系数

从上述线性回归图和相关系数结果显示, 维生素 K<sub>1</sub>、四烯甲萘醌、

七烯甲萘醌、九烯甲萘醌在 0.01-0.8  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内, 各浓度与色谱峰面积响应值之间存在着较好的线性关系,  $R^2$  均  $> 0.99$ 。

#### 6.4 方法检出限及定量限

根据预期用途, 利用测试分析低含量样品的信噪比来验证确定此方法的检出限及定量限。分别在发酵乳和灭菌乳基质中加入检出限浓度附近的标准溶液, 对制备的样品进行测定并对其信噪比进行评估, 结果如表 2:

产品名称	样品编号	MK-4 结果 $\mu\text{g}/100\text{g}$	VK1 结果 $\mu\text{g}/100\text{g}$	MK-7 结果 $\mu\text{g}/100\text{g}$	MK-9 结果 $\mu\text{g}/100\text{g}$	MK-4 信噪 比	VK1 信噪 比	MK-7 信噪 比	MK-9 信噪 比	验证结论
发酵乳 检出限	FJR-LOD1	2.93	2.37	2.25	2.04	157	91	36	13	检出限 2 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 附近, 信噪 比 $> 3$ , 满 足预期用 途及方法 要求
	FJR-LOD2	3.01	2.47	2.32	2.19	192	114	45	18	
	FJR-LOD3	2.87	2.36	2.23	2.05	164	97	38	15	
	FJR-LOD4	2.94	2.42	2.27	2.09	209	124	48	19	
	FJR-LOD5	2.95	2.46	2.31	2.13	158	96	38	15	
	FJR-LOD6	2.83	2.34	2.24	2.03	126	76	29	11	
灭菌乳 检出限	MJR-LOD1	3.14	2.46	2.39	2.05	86	45	8	8	检出限 2 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 附近, 信噪 比 $> 3$ , 满 足预期用 途及方法 要求
	MJR-LOD2	3.37	2.76	2.61	2.22	119	64	11	12	
	MJR-LOD3	3.50	2.78	2.61	2.32	126	67	11	13	
	MJR-LOD4	3.42	2.76	2.46	2.13	105	56	8	10	
	MJR-LOD5	3.41	2.74	2.54	2.14	126	67	11	12	
	MJR-LOD6	3.38	2.67	2.50	2.16	106	55	9	10	

表 2 检出限验证数据

分别在发酵乳和灭菌乳基质中加入定量限浓度附近的标准溶液, 同时对发酵乳基质本底和定量限加标进行测定并对其回收率进行评价, 结果如表 3:

产品名称	样品编号	MK-4 结果 $\mu\text{g}/100\text{g}$	VK1 结果 $\mu\text{g}/100\text{g}$	MK-7 结果 $\mu\text{g}/100\text{g}$	MK-9 结果 $\mu\text{g}/100\text{g}$	MK-4 回收 率	VK1 回收 率	MK-7 回收 率	MK-9 回收 率	验证结论
发酵乳 定量限	FJR-LOQ1	6.68	6.18	5.82	4.85	100.9	102.4	95.8	99.6	定量限加 标的回收
	FJR-LOQ2	6.25	5.74	5.43	4.44	92.9	94.0	88.4	91.8	

(加标 5 μ g/100g)	FJR-LOQ3	6.60	6.04	5.56	4.81	97.8	98.1	89.1	97.4	率满足方 法要求的 70%-120%。
	FJR-LOQ4	5.95	5.52	5.28	4.41	85.9	88.7	84.6	90.6	
	FJR-LOQ5	6.47	5.91	5.43	4.75	97.7	97.9	88.7	98.8	
	FJR-LOQ6	6.61	5.99	5.55	4.64	98.2	97.0	88.9	94.0	
本底	FJR-BD1	1.79	1.20	1.17	0	/	/	/	/	/
	FJR-BD2	1.74	1.21	1.15	0	/	/	/	/	
灭菌乳 定量限 (加标 5 μ g/100g)	MJR-LOQ1	6.17	5.25	4.84	4.28	88.3	81.9	98.2	86.8	定量限加 标的回收 率满足方 法要求的 70%-120%。
	MJR-LOQ2	6.57	5.82	5.11	4.73	96.4	93.3	103.4	95.8	
	MJR-LOQ3	6.35	5.66	5.28	5.10	93.1	91.2	108.2	104.6	
	MJR-LOQ4	5.78	5.09	4.75	4.49	82.3	80.4	98.4	93.0	
	MJR-LOQ5	6.43	5.63	5.26	4.59	93.7	89.7	106.6	93.0	
	MJR-LOQ6	6.26	5.59	5.29	5.01	90.8	89.5	108.0	102.4	
本底	MJR-BD1	1.82	1.21	0	0	/	/	/	/	/
	MJR-BD2	1.80	1.21	0	0	/	/	/	/	

表 3 定量限验证数据

通过以上的验证数据得出，按照信噪比计算验证方式，检出限、定量限结果均小于方法设定中检出限及定量限要求，检出限浓度样品的目标峰出峰信号强度正常，信噪比符合方法性能要求，方法检出限为 2 μg/100g，定量限为 5 μg/100g。

### 6.5 方法准确度（回收率）与精密度验证

为了验证方法的准确性、精密度效果，分别在灭菌乳、发酵乳基质中高中低三浓度水平的加标实验，确认四种目标物的高中低浓度的回收率符合《GB 5009.295-2023 食品安全国家标准 化学分析方法验证通则》方法要求：含量 ≤ 10 μg/100g 时，回收率范围应控制在 70 ~ 120%，10 μg/100g ≤ 含量 ≤ 100mg/100g 时，回收率范围应控制在 80 ~ 110%，精密度通过高中低三水平的 6 次检测结果的变异系数进行评价，结果如下表 4：

基质	样品编号	组份	称样量(g)	样品量(μg/mL)	含量(μg/100g)	理论加标含量(μg/100g)	回收率(%)	精密度(%)	判定标准
发酵	FJR-BD1	MK-4	5.0447	0.0181	1.79	本底	/	/	/
	FJR-BD2		5.0918	0.0177	1.74	本底	/	/	/

乳	FJR-003		5.1352	0.0686	6.68	4.87	100.9	4.3	回收率符合方法70-120%要求, 变异系数 $\leq 10\%$ 。		
	FJR-004		5.1725	0.0647	6.25	4.83	92.9				
	FJR-005		5.0642	0.0668	6.60	4.94	97.8				
	FJR-006		5.1341	0.0611	5.95	4.87	85.9				
	FJR-007		5.1969	0.0672	6.47	4.81	97.7				
	FJR-008		5.0673	0.0670	6.61	4.93	98.2				
	FJR-009		5.1736	0.1149	11.10	9.66	96.6	4.1	回收率符合方法80-110%要求, 变异系数 $\leq 10\%$ 。		
	FJR-010		5.0572	0.1239	12.25	9.89	106.0				
	FJR-011		5.0330	0.1128	11.21	9.93	95.0				
	FJR-012		5.1906	0.1153	11.11	9.63	97.0				
	FJR-013		5.1334	0.1177	11.46	9.74	99.6				
	FJR-014		5.1856	0.1141	11.00	9.64	95.8				
	FJR-015		5.1103	0.4705	46.03	48.92	90.5	1.5	回收率符合方法80-110%要求, 变异系数 $\leq 10\%$ 。		
	FJR-016		5.1051	0.4618	45.23	48.97	88.8				
	FJR-017		5.0677	0.4715	46.52	49.33	90.7				
	FJR-018		5.1710	0.4663	45.09	48.35	89.6				
	FJR-019		5.1941	0.4713	45.37	48.13	90.6				
	FJR-020		5.0421	0.4698	46.59	49.58	90.4				
	发酵乳		FJR-BD1	VK1(ng/mL)	5.0447	12.0638	1.20	本底	/	/	/
			FJR-BD2		5.0918	12.2791	1.21	本底	/	/	/
FJR-003		5.1352	63.5206		6.18	4.87	102.4	4	回收率符合方法70-120%要求, 变异系数 $\leq 10\%$ 。		
FJR-004		5.1725	59.4157		5.74	4.83	94.0				
FJR-005		5.0642	61.1874		6.04	4.94	98.1				
FJR-006		5.1341	56.6623		5.52	4.87	88.7				
FJR-007		5.1969	61.4486		5.91	4.81	97.9				
FJR-008		5.0673	60.6769		5.99	4.93	97.0				
FJR-009		5.1736	109.0232		10.54	9.66	96.6	4.6	回收率符合方法80-110%要求, 变异系数 $\leq 10\%$ 。		
FJR-010		5.0572	119.9371		11.86	9.89	107.8				
FJR-011		5.0330	108.0667		10.74	9.93	96.0				
FJR-012		5.1906	112.1618		10.80	9.63	99.7				
FJR-013		5.1334	114.2076		11.12	9.74	101.9				
FJR-014		5.1856	109.2464		10.53	9.64	96.8				

	FJR-015		5.1103	457.7822	44.79	48.92	89.1	1.4	
	FJR-016		5.1051	454.0861	44.47	48.97	88.4		
	FJR-017		5.0677	460.8657	45.47	49.33	89.7		
	FJR-018		5.1710	453.9934	43.90	48.35	88.3		
	FJR-019		5.1941	462.8625	44.56	48.13	90.1		
	FJR-020		5.0421	459.9467	45.61	49.58	89.6		
发 酵 乳	FJR-BD1	MK-7	5.0447	0.0118	1.17	本底	/	/	/
	FJR-BD2		5.0918	0.0117	1.15	本底	/	/	/
	FJR-003		5.1352	0.0598	5.82	4.87	95.8	3.3	回收率符合方法 70-120%要求, 变 异系数 $\leq$ 10%
	FJR-004		5.1725	0.0562	5.43	4.83	88.4		
	FJR-005		5.0642	0.0563	5.56	4.94	89.1		
	FJR-006		5.1341	0.0542	5.28	4.87	84.6		
	FJR-007		5.1969	0.0564	5.43	4.81	88.7		
	FJR-008		5.0673	0.0562	5.55	4.93	88.9		
	FJR-009		5.1736	0.1038	10.03	9.66	91.8	4.8	回收率符合方法 80-110%要求, 变 异系数 $\leq$ 10%
	FJR-010		5.0572	0.1145	11.32	9.89	102.8		
	FJR-011		5.0330	0.1030	10.23	9.93	91.3		
	FJR-012		5.1906	0.1056	10.17	9.63	93.6		
	FJR-013		5.1334	0.1081	10.53	9.74	96.2		
	FJR-014		5.1856	0.1036	9.99	9.64	91.6		
	FJR-015		5.1103	0.4439	43.43	48.92	86.4	1.9	
	FJR-016		5.1051	0.4342	42.53	48.97	84.5		
	FJR-017		5.0677	0.4491	44.31	49.33	87.5		
	FJR-018		5.1710	0.4418	42.72	48.35	86.0		
	FJR-019		5.1941	0.4441	42.75	48.13	86.4		
	FJR-020		5.0421	0.4469	44.32	49.58	87.0		
发 酵 乳	FJR-BD1	MK-9	5.0447	0	0.00	本底	/	/	/
	FJR-BD2		5.0918	0	0.00	本底	/	/	/
	FJR-003		5.1352	0.0498	4.85	4.87	99.6	4.1	回收率符合方法 70-120%要求, 变 异系数 $\leq$ 10%
	FJR-004		5.1725	0.0459	4.44	4.83	91.8		
	FJR-005		5.0642	0.0487	4.81	4.94	97.4		
	FJR-006		5.1341	0.0453	4.41	4.87	90.6		

灭菌乳	FJR-007	MK-4	5.1969	0.0494	4.75	4.81	98.8	5.9	回收率符合方法 80-110%要求, 变 异系数≤10%		
	FJR-008		5.0673	0.0470	4.64	4.93	94.0				
	FJR-009		5.1736	0.0906	8.76	9.66	90.6	5.9			
	FJR-010		5.0572	0.1007	9.96	9.89	100.7				
	FJR-011		5.0330	0.0892	8.86	9.93	89.2				
	FJR-012		5.1906	0.0947	9.12	9.63	94.7				
	FJR-013		5.1334	0.09775	9.52	9.74	97.8				
	FJR-014		5.1856	0.0883	8.51	9.64	88.3				
	FJR-015		5.1103	0.4455	43.59	48.92	89.1			3.1	
	FJR-016		5.1051	0.4215	41.28	48.97	84.3				
	FJR-017		5.0677	0.441	43.51	49.33	88.2				
	FJR-018		5.1710	0.4175	40.37	48.35	83.5				
	FJR-019		5.1941	0.4376	42.12	48.13	87.5				
	FJR-020		5.0421	0.4351	43.15	49.58	87.0				
	MJR-BD1		MK-4	5.1743	0.0188	1.82	本底	/		/	/
	MJR-BD2			5.0465	0.0182	1.80	本底	/		/	/
	MJR-003			5.0674	0.0625	6.17	4.93	88.3		4.3	回收率符合方法 70-120%要求, 变 异系数≤10%。
	MJR-004			5.0619	0.0665	6.57	4.94	96.4			
	MJR-005			5.1242	0.0651	6.35	4.88	93.1			
	MJR-006			5.1806	0.0599	5.78	4.83	82.3			
MJR-007	5.0708	0.0652		6.43	4.93	93.7					
MJR-008	5.1078	0.0639		6.26	4.89	90.8					
MJR-009	5.0208	0.1207		12.02	9.96	102.5	3.3				
MJR-010	5.1533	0.1171		11.36	9.70	98.4					
MJR-011	5.0174	0.1178		11.74	9.97	99.6					
MJR-012	5.1490	0.1140		11.07	9.71	95.4					
MJR-013	5.1633	0.1140		11.04	9.68	95.3					
MJR-014	5.1078	0.1163		11.38	9.79	97.8					
MJR-015	5.1924	0.4927		47.44	48.15	94.8	3.8	回收率符合方法 80-110%要求, 变 异系数≤10%。			
MJR-016	5.1935	0.5047		48.59	48.14	97.2					
MJR-017	5.1626	0.5239		50.74	48.43	101.0					
MJR-018	5.1989	0.4807		46.23	48.09	92.4					

MJR-019		5.0045	0.4833	48.29	49.96	93.0				
MJR-020		5.1007	0.5197	50.94	49.01	100.2				
MJR-BD1		5.1743	0.0125	1.21	本底	/	/	/		
MJR-BD2		5.0465	0.0122	1.21	本底	/	/	/		
MJR-003		5.0674	0.0532	5.25	4.93	81.9	5.0	回收率符合方法 70-120%要求, 变 异系数 $\leq$ 10%。		
MJR-004		5.0619	0.0589	5.82	4.94	93.3				
MJR-005		5.1242	0.0580	5.66	4.88	91.2				
MJR-006		5.1806	0.0527	5.09	4.83	80.4				
MJR-007		5.0708	0.0571	5.63	4.93	89.7				
MJR-008		5.1078	0.0571	5.59	4.89	89.5				
MJR-009		5.0208	0.1122	11.17	9.96	100.1				
MJR-010		5.1533	0.1069	10.37	9.70	94.4				
MJR-011	VK1	5.0174	0.1101	10.97	9.97	98.0	3.7	回收率符合方法 80-110%要求, 变 异系数 $\leq$ 10%。		
MJR-012		5.1490	0.1053	10.23	9.71	92.9				
MJR-013		5.1633	0.1062	10.28	9.68	93.7				
MJR-014		5.1078	0.1073	10.50	9.79	95.0				
MJR-015		5.1924	0.4749	45.73	48.15	92.5				
MJR-016		5.1935	0.4890	47.08	48.14	95.3				
MJR-017		5.1626	0.4935	47.80	48.43	96.2				
MJR-018		5.1989	0.4660	44.82	48.09	90.7				
MJR-019		5.0045	0.4831	48.27	49.96	94.2	4.0			
MJR-020		5.1007	0.5117	50.16	49.01	99.9				
MJR-BD1		5.1743	0	0	本底	/			/	/
MJR-BD2		5.0465	0	0	本底	/			/	/
MJR-003		5.0674	0.0491	4.84	4.93	98.2			4.6	回收率符合方法 70-120%要求, 变 异系数 $\leq$ 10%
MJR-004		5.0619	0.0517	5.11	4.94	103.4				
MJR-005		5.1242	0.0541	5.28	4.88	108.2				
MJR-006		5.1806	0.0492	4.75	4.83	98.4				
MJR-007		5.0708	0.0533	5.26	4.93	106.6				
MJR-008		5.1078	0.0540	5.29	4.89	108.0				
MJR-009		5.0208	0.1071	10.67	9.96	107.1				
MJR-010		5.1533	0.1004	9.74	9.70	100.4				
MJR-019		5.0045	0.4833	48.29	49.96	93.0	5.3	回收率符合方法 80-110%要求, 变		
MJR-020		5.1007	0.5197	50.94	49.01	100.2				

MJR-011		5.0174	0.1075	10.71	9.97	107.5		4.9	异系数 $\leq 10\%$
MJR-012		5.1490	0.0972	9.44	9.71	97.2			
MJR-013		5.1633	0.1009	9.77	9.68	100.9			
MJR-014		5.1078	0.1008	9.87	9.79	100.8			
MJR-015		5.1924	0.4612	44.41	48.15	92.2			
MJR-016		5.1935	0.4924	47.41	48.14	98.5			
MJR-017		5.1626	0.4921	47.66	48.43	98.4			
MJR-018		5.1989	0.4439	42.69	48.09	88.8			
MJR-019		5.0045	0.4821	48.17	49.96	96.4			
MJR-020		5.1007	0.4886	47.90	49.01	97.7			
MJR-BD1		5.1743	0	0.00	本底	/	/	/	/
MJR-BD2		5.0465	0	0.00	本底	/	/	/	/
MJR-003		5.0674	0.0434	4.28	4.93	86.8	6.7	回收率符合方法 70-120%要求, 变 异系数 $\leq 10\%$	
MJR-004		5.0619	0.0479	4.73	4.94	95.8			
MJR-005		5.1242	0.0523	5.10	4.88	104.6			
MJR-006		5.1806	0.0465	4.49	4.83	93.0			
MJR-007		5.0708	0.0465	4.59	4.93	93.0			
MJR-008		5.1078	0.0512	5.01	4.89	102.4			
MJR-009		5.0208	0.0938	9.34	9.96	93.8			
MJR-010		5.1533	0.0875	8.49	9.70	87.5			
MJR-011	MK-9	5.0174	0.0906	9.03	9.97	90.6	4.2	回收率符合方法 80-110%要求, 变 异系数 $\leq 10\%$	
MJR-012		5.1490	0.0869	8.44	9.71	86.9			
MJR-013		5.1633	0.0883	8.55	9.68	88.3			
MJR-014		5.1078	0.0877	8.58	9.79	87.7			
MJR-015		5.1924	0.4257	40.99	48.15	85.1			
MJR-016		5.1935	0.4496	43.28	48.14	89.9	4.4		
MJR-017		5.1626	0.4218	40.85	48.43	84.4			
MJR-018		5.1989	0.4124	39.66	48.09	82.5			
MJR-019		5.0045	0.4480	44.76	49.96	89.6			
MJR-020		5.1007	0.4352	42.66	49.01	87.0			

表 4 MK-4、VK1、MK-7、MK-9 准确度和精密度验证数据

## 6.6 方法实验室间的重现性实验

参照 GB/T 6379.4 以及 GB/T 5009.1, 组织选取了内蒙古蒙牛乳业(集团)股份有限公司、上海市质量监督检验技术研究院、内蒙古欧世蒙牛乳制品有限责任公司、青岛海关技术中心、上海微谱检测认证有限公司等 5 家实验室进行了方法验证及比对, 实验室的准确度、精密度符合 GB 5009.295-2023 《食品安全国家标准 化学分析方法验证通则》, 四烯甲萘醌、维生素 K<sub>1</sub>、七烯甲萘醌、九烯甲萘醌四组分在乳制品相关基质中的实验室间重复性偏差范围分别为: 2.37%-6.73%、1.34%-12.94%、1.50%-6.24%、1.61%-10.47%, 方法操作的重现性较好。汇总四个实验室间方法重现性验证结果如下表 5-8:

实验室		实验室 1			实验室 2			实验室 3			实验室 4			实验室 5			实验室间平均值/回收率	实验室间最大重复性偏差
四烯甲萘醌检测结果		检测值/回收率	均值/平均回收率	CV值/精密程度														
发酵乳	本底	1.55	1.535	1.95%	1.5	1.49	1.34%	1.62	1.6	2.50%	1.55	1.585	4.42%	1.51	1.52	1.32%	1.54875	/
		1.52			1.48			1.58			1.62			1.53				
	5μg/100g (加标)	99.2	101.3	5.07%	97.9	97.0	3.48%	95.7	94.7	4.85%	95.8	4.13%	92.1	97.5	4.97%	97.25	6.73%	
		106.1			101.1			97.5					98.7					102.1
		95			94			88					96.4					98.9
		99.1			97.7			98.5					88.7					90.9
		99.4			92			98.6					99.3					101.8
		108.8			99.2			90					94.0					99.2
		101.0			98.0			94.5					96.4					94.9
	109.7	101.5	101.2	96.5	94.6													
	105.9	99.5	102.6	94.8	101.3													
	10μg/100g (加标)	97.2	100.5	6.27%	95.8	98.9	2.77%	101.8	98.6	3.87%	96.6	1.69%	96.9	97.1	2.71%	98.31	3.97%	
		94.0			96.1			94.0					95.2					99.2
		94.9			102.4			97.2					97.0					95.9
		87.0			91.7			94.5					93.9					93.6

	g/100g (加标)	93.4			91.6			93.9			90.9			96.6				
		84.6			96.6			92.9			96.5			94.1				
		94.9			95.9			95.7			95.6			92.0				
		88.7			96.6			92.0			92.9			96.6				
		96.8			94.6			93.1			94.6			91.2				
灭菌乳	本底	1.75	1.775	2.82%	1.74	1.755	1.71%	1.63	1.705	8.80%	1.79	1.81	2.21%	1.71	1.775	7.32%	1.76125	/
		1.80			1.77			1.78			1.83			1.84				
	5 $\mu$ g/100g (加标)	91.3	91.1	3.53%	93.3	88.3	3.72%	88.1	90.8	3.18%	95.8	91.4	5.76%	89.7	93.8	3.47%	91.07	6.03%
		94.0			87.8			92.3			87.3			93.0				
		87.9			88.2			87.8			90.3			95.9				
		86.6			85.6			90.5			83.7			97.6				
		94.5			84.2			90.5			94.3			90.4				
		92.5			90.4			95.6			97.1			96.0				
	10 $\mu$ g/100g (加标)	100.7	98.5	2.88%	100.2	97.6	2.30%	100.1	97.1	2.55%	99.7	96.2	3.56%	98.1	96.7	3.59%	97.21	2.37%
		95.2			98.2			94.4			92.7			92.5				
		98.5			95.2			100.1			96.9			92.3				
		101.9			96.0			96.9			92.2			99.5				
		99.5			95.7			94.9			100.3			97.6				
		95.1			100.2			96.4			95.3			100.2				
	50 $\mu$ g/100g (加标)	97.0	95.5	2.32%	95.3	92.8	2.17%	90.8	92.3	1.54%	91.1	94.2	1.83%	91.3	92.3	1.62%	93.42	3.52%
		96.1			90.9			94.0			95.1			92.2				
		92.0			95.0			91.8			94.7			91.2				
		96.7			91.5			93.3			93.5			95.1				
		93.7			90.8			90.6			95.0			91.2				
		97.8			93.0			93.1			96.0			92.7				

表 5 乳制品基质中四烯甲萘醌检测重现性结果

实验室		实验室 1			实验室 2			实验室 3			实验室 4			实验室 5			实验室间 平均值/ 回收率	实验 室间 最大 重复 性偏 差
维生素 K1 检测 结果		检测 值/回 收率	均值 /平 均回 收率	CV 值/精 密度	检测 值/回 收率	均值/ 平均回 收率	CV 值/ 精密 度	检测 值/回 收率	均值/ 平均回 收率	CV 值/精 密度	检测 值/回 收率	均值/平 均回收 率	CV 值/ 精密 度	检测 值/回 收率	均值/ 平均回 收率	CV 值 /精密 度		
发 酵 乳	本 底	1.1	1.14	7.02 %	1.18	1.1509 68822	5.76 %	1.11	1.10539 184	0.64 %	1.18	1.16619 5085	2.07%	1.12	1.1717 50788	8.89%	1.148576 634	/
		1.18			1.12			1.10			1.15			1.22				
	5μ g/1 00g ( 加 标)	103.0	96.8	4.35 %	100.8	100.8	2.64 %	103.8	102.5	2.70 %	99.4	100.0	2.08%	99.1	101.9	3.16%	100.39	5.71%
		98.5			103.0			103.3			102.7			101.4				
		95.3			103.7			100.0			99.3			106.1				
		91.9			98.5			100.1			100.8			105.4				
		92.9			101.8			107.1			101.2			98.3				
		99.1			96.8			100.8			96.6			100.9				
	10μ g/1 00g (	93.9	94.8	3.74 %	89.7	90.4	3.70 %	94.2	92.9	2.52 %	90.1	92.6	3.60%	90.9	91.4	3.02%	92.43	4.71%
		98.5			88.9			96.0			96.6			91.0				
		90.3			88.2			94.0			91.2			95.3				
		95.1			97.1			91.5			95.9			89.3				

	加标)	99.1			90.1			92.8			88.2			93.8				
		91.8			88.6			89.3			93.6			87.9				
	50μg/100g (加标)	97.0	94.5	2.47%	92.7	95.0	2.03%	91.8	94.0	2.07%	92.5	94.9	2.41%	95.0	95.3	1.63%	94.74	1.34%
		90.3			94.2			92.4			97.6			93.3				
		93.6			96.3			97.0			95.1			96.8				
		95.1			95.9			95.5			94.7			94.3				
		95.2			93.1			93.2			92.1			94.9				
95.9	97.6	94.2	97.2	97.5														
本底	1.22	1.21	1.65%	1.26	1.225	5.71%	1.18	1.135	7.93%	1.11	1.1	1.82%	1.26	1.225	5.71%	1.17125	/	
	1.20			1.19			1.09			1.09			1.19					
5μg/100g (加标)	84.4	92.4	5.42%	95.5	99.4	2.62%	98.2	101.5	3.34%	103.2	105.3	1.97%	103.7	98.9	2.80%	99.48	12.94%	
	91.4			102.9			97.0			106.3			95.4					
	92.6			99.2			100.9			107.0			98.0					
	91.1			101.6			105.7			106.8			99.7					
	95.3			99.3			103.5			102.1			98.7					
	99.5			97.9			103.5			106.3			97.7					
10μg/100g (加标)	103.1	95.3	5.67%	90.6	89.8	2.78%	89.7	91.4	1.96%	91.1	92.7	3.48%	91.9	91.2	1.82%	92.08	5.93%	
	94.0			89.2			93.2			89.1			93.5					
	97.5			94.5			92.0			97.0			90.7					
	88.9			87.8			89.0			91.0			89.7					
	90.0			88.7			91.2			91.5			89.0					
	98.3			88.2			93.3			96.4			92.2					
50μg/100g	95.3	95.1	2.38%	92.9	95.3	1.60%	96.9	94.8	1.41%	94.9	95.5	1.97%	92.7	94.1	2.10%	94.97	1.57%	
	95.3			95.2			93.8			97.4			95.1					
	91.0			96.2			96.1			94.5			93.1					

灭菌乳

(加标)	97.2			94.4			94.2			97.5			91.8					
	94.7			96.6			93.8			92.7			94.3					
	97.1			96.8			94.1			96.2			97.3					

表 6 乳制品基质中维生素 K1 检测重现性结果

实验室		实验室 1			实验室 2			实验室 3			实验室 4			实验室 5			实验室间平均值/回收率	实验室间最大重复性偏差
七烯甲萘醌检测结果		检测值/回收率	均值/平均回收率	CV 值/精密度														
发酵乳	本底	10.17	10.42	4.80%	9.97	9.905	1.31%	9.93	9.815	2.34%	9.78	9.805	0.51%	9.84	9.9	1.21%	9.85625	6.24%
		10.67			9.84			9.70			9.83			9.96				
	5μg/100g (加标)	105.9	101.1	5.14%	99.3	102.1	2.27%	104.3	101.3	4.16%	101.7	103.8	4.92%	106.4	101.5	4.08%	101.93	2.70%
		100.9			100.9			97.3			102.4			100.7				
		92.3			102.9			99.3			100.5			100.9				
		103.0			103.1			103.8			109.2			96.7				
		105.9			105.8			106.7			98.1			106.3				
		98.4			100.5			96.3			111.0			97.6				
	10μg/100g	99.8	102.8	2.18%	105.1	105.3	2.87%	101.6	104.2	2.97%	103.6	103.8	3.57%	98.2	101.3	3.65%	103.47	2.42%
		106.3			100.1			104.5			105.5			97.6				

	(加标)	101.5			104.7			100.5			108.9			100.7				
		103.0			106.0			109.0			98.6			100.7				
		104.1			106.9			103.3			105.5			107.8				
		102.0			109.1			106.1			100.6			102.5				
	50μg/100g (加标)	90.1	92.1	4.78%	86.7	88.1	1.83%	86.4	88.8	1.90%	86.5	88.5	2.93%	88.9	88.7	2.20%	89.24	4.06%
		96.6			87.9			89.4			88.5			89.9				
		86.2			88.5			90.4			86.1			88.8				
		90.9			86.0			87.4			86.5			91.4				
		90.9			89.6			90.6			91.7			86.2				
		98.0			90.2			88.4			91.6			86.7				
灭菌乳	本底	0.00	0	/	0.00	0	/	0.00	0	/	0.00	0	/	0.00	0	/	0	/
		0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0	/
	5μg/100g (加标)	107.6	101.5	3.52%	100.4	104.9	3.27%	106.0	105.8	2.29%	106.8	104.4	2.54%	106.4	105.0	2.18%	104.32	4.12%
		102.2			105.6			104.8			102.4			105.0				
		101.8			100.8			108.2			105.4			103.4				
		101.6			106.6			104.0			101.0			108.8				
		98.2			108.4			109.0			103.2			103.8				
		97.6			107.4			102.8			107.8			102.6				
	10μg/100g (加标)	101.6	97.9	4.29%	101.7	99.2	2.67%	103.1	99.3	3.42%	95.9	98.7	3.33%	98.6	99.4	3.63%	98.90	1.50%
		101.1			96.5			101.6			96.0			103.2				
		100.8			98.6			95.9			99.8			102.0				
		98.7			102.2			101.9			95.5			102.2				
		92.9			95.9			95.0			102.2			95.2				
		92.4			100.3			98.3			102.6			95.2				
	50μ	91.3	93.4	4.69%	98.4	96.8	1.91%	97.0	96.8	2.08%	98.2	97.2	1.92%	99.9	96.5	2.61%	96.14	3.94%

g/100g (加 标)	97.5			98.0			99.9			95.3			94.2				
	87.6			95.5			98.1			98.3			94.4				
	92.4			94.5			95.8			97.8			94.4				
	92.0			99.1			95.8			94.4			98.7				
	99.5			95.7			94.1			99.0			97.5				

表 7 乳制品基质中七烯甲萘醌检测重现性结果

实验室		实验室 1			实验室 2			实验室 3			实验室 4			实验室 5			实验室间 平均值/回 收率	实验室 间最大 重复性 偏差
九烯甲萘 醌检测结 果		检测 值/ 回收 率	均值/ 平均 回收 率	CV 值/ 精密 度														
发 酵 乳	本底	0.00	0	/	0.00	0	/	0.00	0	/	0.00	0	/	0.00	0	/	0	/
		0.00			0.00			0.00			0.00							
	5 $\mu$ g/100g (加 标)	100.6	96.7	4.17%	108.0	106.7	1.89%	107.0	105.4	3.26%	100.6	104.1	3.20%	104.0	102.3	2.20%	103.03	9.67%
		91.2			106.8			100.0			100.4							
		99.6			103.6			104.0			106.0							
		95.0			105.0			109.2			109.0							
		100.4			109.0			104.0			105.2							
93.4	107.6	108.4	103.2	101.0														

	10μg/100g (加标)	90.6	92.1	5.34%	97.9	99.0	2.58%	100.9	99.4	3.25%	101.3	99.5	2.63%	102.5	102.0	1.35%	98.40	10.08%
		101.2			102.5			101.2			100.9			102.5				
		92.3			97.4			95.3			97.1			101.8				
		92.1			97.5			95.8			96.2			99.3				
		89.5			102.1			99.9			98.6			102.8				
		86.7			96.8			103.5			102.9			103.0				
	50μg/100g (加标)	104.2	98.0	3.76%	95.3	96.0	1.55%	98.1	96.3	1.46%	97.7	97.1	2.27%	94.8	95.9	1.76%	96.67	2.15%
		99.7			95.2			95.9			95.9			98.4				
		93.6			94.9			94.5			99.2			94.1				
		95.5			95.4			97.9			94.3			97.4				
		97.8			96.5			95.8			95.5			94.8				
		97.2			98.8			95.7			99.8			96.0				
	本底	0.00	0	/	0.00	0	/	0.00	0	/	0.00	0	/	0.00	0	/	0	/
		0.00			0.00			0.00			0.00							
灭菌乳	5μg/100g (加标)	91.2	97.9	4.33%	106.8	104.8	2.86%	103.2	105.7	2.61%	102.4	102.1	1.39%	107.6	107.5	1.84%	103.59	9.30%
		94.2			108.8			104.0			101.0			103.8				
		99.6			105.4			106.0			101.0			108.6				
		100.2			100.0			109.6			101.8			109.6				
		99.6			104.0			108.2			104.8			108.0				
		102.4			103.8			103.0			101.6			107.4				
	10μg/100g (加标)	93.8	91.0	4.74%	102.4	99.6	2.73%	95.0	99.2	3.77%	96.1	96.4	0.58%	97.3	101.2	2.64%	97.46	10.47%
		83.5			101.9			97.4			96.8			103.7				
		95.2			99.4			103.8			96.9			102.5				
		89.3			101.0			95.4			96.0			102.9				
		90.2			97.2			102.0			96.9			102.3				

	93.8			95.6			101.6			95.6			98.3				
50μ g/100g (加 标)	86.7	90.4	3.07%	93.1	91.9	1.88%	88.0	90.4	2.47%	91.8	90.4	2.02%	93.6	90.6	1.99%	90.74	1.61%
	91.7			89.1			93.7			90.5			88.3				
	94.0			92.8			92.0			93.2			90.2				
	87.6			91.4			88.0			89.1			91.6				
	90.6			91.0			90.7			89.8			89.8				
	91.8			93.8			90.1			88.2			90.3				

表 8 乳制品基质中九烯甲萘醌检测重现性结果

#### 四、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系

以下是关于维生素 K 的相关法律法规及主要检测方法,早在 2009 年,根据欧洲议会和理事会条例 (EC) No 258/97,批准纳豆芽孢杆菌产生的维生素 K<sub>2</sub> (甲基萘醌) 作为一种新型食品配料投放市场,另外,2024 年澳新食品标准局拟批准在特殊医学用途食品中使用维生素 K<sub>2</sub> 作为维生素 K 的允许形式。

序号	来源国家或组织	标准号	标准名称	使用规定/检测范围	与制修订标准的关系
1	中国	GB 14880-2012	食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准	调制乳粉(仅限儿童用乳粉)、调制乳粉(仅限孕产妇用乳粉)	/
2	中国	GB 5009.290-2023	食品安全国家标准 食品中维生素 K <sub>2</sub> 的测定	乳及乳制品、特殊膳食食品、发酵豆制品、肉及肉制品	非等效
3	中国	GB 5009.158-2016	食品安全国家标准 食品中维生素 K <sub>1</sub> 的测定	婴幼儿食品和乳品、植物油等	非等效
4	中国	T/ZJATA 0002-2020	AOAC Official Method 999.15	保健食品	非等效
5	AOAC	AOAC Official Method 999.15	AOAC Official Method 999.15	乳品和婴幼儿配方奶粉	非等效

表 9 维生素 K<sub>1</sub> 和 K<sub>2</sub> 相关法律法规及标准

#### 五、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准在编制过程中没有重大意见分歧。

#### 七、标准作为强制性标准或推荐性标准的建议

本标准为食品类化学分析检测方法标准,并不涉及有关国家安全、保护人体健康和人身财产安全、环境质量要求等有关强制性标准,建议将其作为推荐性团体标准颁布实施。

## 八、贯彻标准的要求和措施建议

本文件正式发布后，拟采取标准宣贯工作，各参与单位将依照标准方法开展产品研发、质量检测应用工作。

## 九、废止现行有关标准的建议

与现行相关标准无冲突，不涉及废止相关标准的情况。

## 十、其他应予说明的事项

无。